



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Pedro Lopes Amado

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “GPR30: Funções do Recetor 1 de Estrogénio Acoplado à Proteína G” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Cláudia Silvestre, da Dra. Margarida Mesquita de Carvalho e do Professor Doutor Alcino Leitão apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Pedro Lopes Amado

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “GPR30: Funções do Recetor I de Estrogénio Acoplado à Proteína G” referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Cláudia Silvestre, da Dra. Margarida Mesquita de Carvalho e do Professor Doutor Alcino Leitão e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Eu, Pedro Lopes Amado, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2014203637, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “GPR30: Funções do Recetor I de Estrogénio Acoplado à Proteína G” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 05 de setembro de 2019.

Pedro Lopes Amado

(Pedro Lopes Amado)

Agradecimentos

Aos meus pais, pelo contínuo apoio em todas as minhas aventuras. Pela eterna confiança em mim, sempre que chegava a casa a anunciar um novo desafio. Ao Filipe e à Teresa, por todos os dias me lembrarem que o maior amor será sempre o de irmãos. Que eu saiba sempre regressar a casa.

Ao João Pedro Pinheiro, pelo caminho lado-a-lado e pela confiança. Ao Miguel, ao Rodrigo e ao Vasco, por todas as proezas e pelas conquistas alcançadas em conjunto.

À Tertúlia, pelo eterno companheirismo e amizade.

À Sofia, por me conhecer melhor que ninguém. Obrigado por esta amizade sem fim.

Ao Eduardo, ao Simão, à Beatriz e à Francisca, por serem a minha segunda família. Por me permitirem acreditar em mim e me fazerem sentir sempre em casa.

Ao NEF/AAC, pelos constantes desafios pessoais e pelo crescimento que despoletou em mim. À Rita, à Joana, à Carla, à Sofia e à Raquel, pela concretização de um sonho tão exigente. O trabalho em equipa é sempre o mais gratificante.

Aos Campinácios, por me centrarem no essencial. Pelos valores transmitidos, pelas vivências partilhadas e pelo coração cheio com que regresso sempre. À Joana, por estar sempre ao meu lado. Ao Luís e à Maria, pelo espírito de equipa e pela entrega.

Ao Professor Doutor Alcino Leitão, pela constante disponibilidade e auxílio. O meu muito obrigado por toda a colaboração.

À Dra. Cláudia Silvestre e a toda a equipa da Farmácia de Celas, por me ensinarem que um farmacêutico trabalhará sempre em prol do bem-estar do utente.

À Dra. Margarida Mesquita e à Dra. Inês Pereira, pelo acolhimento e auxílio num ambiente novo. Ao Departamento da Gestão da Qualidade, pela excelente integração e por todo o companheirismo ao longo do período de estágio.

À Faculdade de Farmácia, por estes cinco anos de crescimento e formação.

Índice

Parte I - Relatório de Estágio Farmácia de Celas	6
Lista de Abreviaturas	7
1. Introdução	8
2. Análise SWOT	9
2.1 Strengths (Forças)	9
2.1.1 Programa do estágio.....	9
2.1.2 Metodologia <i>Kaizen</i>	9
2.1.3 Serviços Farmacêuticos.....	10
2.1.4 Preparação de medicamentos manipulados.....	11
2.2 Weaknesses (Fraquezas)	11
2.2.1 Insegurança em determinadas áreas do aconselhamento.....	11
2.2.2 Duração do estágio curricular.....	12
2.3 Opportunities (Oportunidades)	13
2.3.1 Formação complementar contínua.....	13
2.3.2 Localização da farmácia.....	13
2.3.3 Cartão Saúde.....	14
2.4 Threats (Ameaças)	14
2.4.1 Encargos financeiros nas receitas eletrónicas.....	14
2.4.2 Medicamentos esgotados.....	15
3. Casos Práticos	15
4. Considerações Finais	17
Parte II - Relatório de Estágio Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A.	18
Lista de Abreviaturas	19
1. Introdução	20
2. Análise SWOT	22
2.1 Strengths (Forças)	22
2.1.1 Cultura de Qualidade.....	22
2.1.2 Transversalidade do Departamento QM.....	22
2.1.3 Aplicação de conhecimentos.....	23
2.1.4 Metodologia <i>Kaizen</i>	23
2.1.5 Visitas diárias.....	24
2.2 Weaknesses (Fraquezas)	24
2.2.1 Duração do Estágio.....	24
2.3 Opportunities (Oportunidades)	25
2.3.1 Plano de formação.....	25
2.3.2 Presença em inspeções da FDA e do Infarmed.....	25

2.4 Treaths (Ameaças)	26
2.4.1 Crescentes exigências de qualidade.....	26
2.4.2 Abordagem no MICF.....	26
3. Considerações Finais	28
Parte III - Monografia “GPR30: Funções do Recetor I de Estrogénio Acoplado à Proteína G”	29
Lista de Abreviaturas	30
Resumo	32
Abstract	33
1. Introdução	34
2. Recetores de estrogénio	35
2.1 ER α e ER β	35
2.2 GPER-I.....	36
2.3 Vias de sinalização.....	38
3. Interações com o GPER-I	40
3.1 Interações com outros recetores.....	40
3.2 Agonistas e antagonistas seletivos do GPER-I	41
3.3 Moduladores Seletivos dos Recetores de Estrogénio (SERMs)	42
3.4 Degradadores Seletivos dos Recetores de Estrogénio (SERDs).....	44
4. GPER-I no cancro da mama	44
4.1 Desenvolvimento e metástases	44
4.2 Papel controverso do GPER-I.....	47
4.3 Terapêuticas de supressão da expressão do GPER-I	48
5. Conclusões	49
Referências Bibliográficas	51

Parte I

Relatório de Estágio

Farmácia de Celas

Lista de Abreviaturas

ANF – Associação Nacional das Farmácias

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM – Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

PIM – Preparação Individualizada da Medicação

PVP – Preço de Venda ao Público

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) contempla, no segundo semestre do quinto ano de estudos, um estágio curricular em farmácia comunitária.

A dispensa de medicamentos, com as devidas recomendações relativas às propriedades e segurança do próprio medicamento e ao seu processo de uso, está na base da profissão, associada ao adequado aconselhamento de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), suplementos e outros produtos de saúde e bem-estar. A estas acrescentam-se serviços farmacêuticos diferenciados, como a preparação de medicamentos manipulados e a medição de parâmetros bioquímicos, bem como ações de gestão e *marketing*, fruto da crescente competitividade do mercado e da necessidade de adaptação das farmácias a este, acoplado de uma população cada vez mais informada e, como tal, mais exigente.

A proximidade aos utentes e o contacto direto com a população são os pontos de distinção desta área da profissão farmacêutica: ao tomar consciência da sua posição privilegiada na educação e promoção para a saúde da população, o farmacêutico comunitário torna-se um profissional da área da saúde de primeira linha, porto seguro dos seus utentes, que confiam no estabelecimento da farmácia e, concretamente, na figura do farmacêutico, para resolução dos seus problemas imediatos de saúde.

É neste sentido que o estágio curricular em farmácia comunitária se insere como peça fundamental do período formativo do futuro farmacêutico, que estará, em breve, na linha da frente da promoção da saúde individual dos seus utentes e da saúde pública geral. Neste âmbito, tive a oportunidade de realizar o meu estágio na Farmácia de Celas, sob a orientação da Dra. Cláudia Silvestre, Diretora Técnica da farmácia, de janeiro a abril de 2019, com a duração total de 670 horas de estágio.

O presente relatório foi elaborado através de uma análise SWOT. Esta é uma ferramenta simples, mas concisa, de avaliação de algo e do seu meio envolvente, dividindo-se numa componente interna – Forças (S – *Strengths*) e Fraquezas (W – *Weaknesses*) – e numa componente externa – Oportunidades (O – *Opportunities*) e Ameaças (T – *Threats*). Como tal, as Forças e Fraquezas são inerentes ao assunto em análise, enquanto que as Oportunidades e Ameaças são direcionadas ao seu envolvente [1].

A adaptação deste método para o meu estágio curricular permitiu-me fazer uma análise sucinta e concreta do mesmo. Esta análise é ainda complementada com dois Casos Práticos de situações experienciadas no decorrer do meu estágio na Farmácia de Celas.

2. Análise SWOT

2.1 Strengths (Forças)

2.1.1 Programa do estágio

Dada a natureza do estágio curricular, tendo este sido o meu primeiro contacto com o mundo profissional, considero fundamental a abordagem que foi feita e o plano de estágio que me foi proposto. Numa primeira etapa, o trabalho desenvolvido passou essencialmente por *back-office*, receção de encomendas e familiarização quer com o software informático da farmácia, Sifarma 2000®, quer com a farmácia em si, os seus espaços, montras e logística interna de arrumação de medicamentos e produtos. Isto permitiu que, durante a receção de encomendas, pudesse ir associando os conhecimentos teóricos adquiridos nos últimos anos à realidade prática da farmácia (nomeadamente, princípios ativos e nomes comerciais de medicamentos) e que no futuro, aquando do atendimento ao balcão, estivesse melhor preparado, sendo inclusive mais independente no que concerne à localização dentro da farmácia dos produtos necessários. Nesta fase, foi-me dada ainda a oportunidade de estudar fluxogramas de aconselhamento terapêutico, que auxiliaram a minha preparação para um mais eficaz aconselhamento aos utentes da farmácia.

Numa fase seguinte, fui acompanhando atendimentos ao balcão, permitindo que percebesse os diferentes passos dos mesmos e a logística inerente, e fazendo as primeiras vendas e aconselhamentos, acompanhado por uma das farmacêuticas da farmácia. À medida que a minha confiança e prática foram aumentando, comecei a realizar atendimentos sozinho, num balcão ao lado de alguém mais experiente, possibilitando que, rapidamente, pudesse esclarecer dúvidas que fossem surgindo.

Considero que esta abordagem de exponencial autonomia permitiu a minha evolução enquanto estagiário, com a adequação das responsabilidades atribuídas às minhas capacidades e preparação, sendo cada nova etapa alicerçada nos conhecimentos adquiridos nas que a sucederam.

2.1.2 Metodologia Kaizen

A Farmácia de Celas tem implementada uma organização segundo a metodologia *Kaizen*, que estabelece uma filosofia com foco na mudança (“*Kai*”) para melhor (“*Zen*”), com foco na melhoria contínua e na integração de toda a equipa na mesma [2]. Esta pode ser observada nos diversos espaços da farmácia, nomeadamente, no que concerne à organização

e otimização dos mesmos, bem como nos seus processos, desde a receção e arrumação de encomendas ao atendimento e aconselhamento final.

No que concerne a arrumação de encomendas, após a sua entrada no sistema informático, estas eram separadas por forma farmacêutica, com espaços dedicados exclusivamente a colírios, pomadas e cremes, aerossóis e produtos de administração retal. Os medicamentos de maior rotação na farmácia tinham um local específico de arrumação - o *cockpit* – que consistia nas gavetas mais próximas de cada conjunto de balcões de atendimento. Isto permite uma maior acessibilidade aos mesmos, aumentando a eficiência do processo do atendimento na medida em que, frequentemente, não era necessário recorrer ao *back-office* para trazer os medicamentos necessários, melhorando, conseqüentemente, a qualidade do serviço prestado pela farmácia.

Com vista à melhoria contínua, eram realizadas reuniões diárias de cinco minutos, com toda a equipa da farmácia, para discussão dos pontos de situação das tarefas a cargo de cada um e procura de soluções para os problemas que surgiam. Nestas reuniões, eram ainda analisados os parâmetros e indicadores definidos para certo período de tempo e discutidas estratégias para alcance dos mesmos.

Creio que a metodologia *Kaizen* permite uma maior eficiência do dia-a-dia de trabalho da farmácia e que contribuiu para a minha integração na mesma, possibilitando, através das reuniões diárias, que fosse constantemente aprendendo ao longo do estágio.

2.1.3 Serviços Farmacêuticos

A Farmácia de Celas é bastante dinâmica no que concerne aos Serviços Farmacêuticos que disponibiliza aos seus utentes. O seu espaço dispõe de três gabinetes de atendimento distintos, permitindo a realização de serviços como a medição de parâmetros bioquímicos e antropométricos (com posterior anotação dos valores no Sifarma 2000® para um correto acompanhamento do utente), consultas de nutrição, podologia, entre outros. Há uma constante preocupação com a adição e adequação de novos serviços na Farmácia de Celas, por forma a aumentar o grau de satisfação dos utentes e adicionar valor àquilo que a farmácia tem para lhes oferecer.

Durante o meu período de estágio, observei a inclusão de dois novos serviços: sessões de *Shiatsu* (do japonês “*shi*”, dedos, e “*atsu*”, pressão), uma terapia baseada na aplicação de pressão com os dedos ao longo do corpo [3], e serviço de Preparação Individualizada da

Medicação (PIM). Destaco este último, que consiste na preparação semanal da medicação, através de blisters específicos para o efeito, para utentes com dificuldade no acompanhamento do processo de toma de todos os seus medicamentos, não só pela sua utilidade e melhoria da qualidade de vida que creio que confere, mas também pela confiança que me foi atribuída na preparação semanal destes blisters, com supervisão de uma das farmacêuticas. Apesar de este não trazer garantias de que a medicação está a ser tomada corretamente, acredito que facilite o dia-a-dia dos utentes aderentes, enaltecendo o papel que a farmácia pode ter no seu auxílio.

2.1.4 Preparação de medicamentos manipulados

Uma das áreas de distinção do farmacêutico comunitário, comparativamente aos restantes profissionais de saúde, é a preparação de medicamentos manipulados, que permite dar resposta a necessidades específicas de um doente, nos casos em que a indústria farmacêutica não apresenta uma solução formulada. O farmacêutico é, assim, responsável por todos os passos da preparação do medicamento manipulado, desde a aquisição das matérias-primas à sua preparação e conservação até ao momento da dispensa [4].

Apesar do número de medicamentos manipulados necessários diminuir com o avanço da ciência e tecnologia aplicada à indústria farmacêutica, a Farmácia de Celas prepara um elevado número destes por ano, nomeadamente, em casos de adaptação de formulações para uso pediátrico, dada a sua proximidade ao Hospital Pediátrico. Foi-me dada a oportunidade de colaborar na preparação de diversos medicamentos manipulados, como uma suspensão oral de propanolol a 5%, para uso pediátrico, uma vez que a fisiologia corporal das crianças torna esta formulação mais adequada às suas necessidades terapêuticas. Adicionalmente, colaborei também no preenchimento da folha de preparação do medicamento manipulado, onde constam as matérias primas e quantidades necessárias, as condições de armazenamento, o prazo de validade e o cálculo do valor do preço de venda do medicamento.

2.2 Weaknesses (Fraquezas)

2.2.1 Insegurança em determinadas áreas do aconselhamento

O aconselhamento farmacêutico vai muito além da segurança e precauções relativas ao processo de uso de medicamentos humanos. Como tal, o farmacêutico deve estar preparado para responder a questões e saber aconselhar sobre várias áreas, nomeadamente dispositivos médicos, ortopedia, medicamentos veterinários e cosméticos.

Nos primeiros meses do meu estágio, senti uma certa insegurança no aconselhamento em algumas destas áreas, que me inibiam de realizar um atendimento com confiança, recorrendo frequentemente aos membros da equipa da farmácia mais experientes. Apesar deste facto estar também relacionado com o nervosismo e inexperiência naturais do primeiro contacto com a realidade concreta da atividade farmacêutica, creio que o plano curricular do MICF poderia ser adaptado, de forma ter um foco maior no aconselhamento farmacêutico que deve ser prestado em algumas destas áreas. Destaco os medicamentos de uso veterinário, pela dificuldade sentida nesta área concreta, dada a natureza das farmácias enquanto local de eleição de dispensa destes produtos e a sua pouca abordagem no atual plano curricular do MICF.

2.2.2 Duração do estágio curricular

O estágio curricular representa a conclusão de um ciclo de estudos, o primeiro contacto do futuro farmacêutico com o mundo profissional e a sua rampa de entrada para o mesmo. Durante os quatro meses que passei na Farmácia de Celas, tive a oportunidade de aplicar os conhecimentos que adquiri ao longo dos anos anteriores, nomeadamente, nas áreas da farmacologia, cuidados farmacêuticos, fitoterapia, bioquímica, entre outras.

Devido à inexperiência inicial e à necessidade de existência de um período transitório de adaptação, apenas no último mês me senti plenamente confiante ao realizar as tarefas que me eram atribuídas. O conforto e a segurança no atendimento foram a barreira que senti mais dificuldade em superar e, quando finalmente senti que conseguia disponibilizar aos utentes da farmácia um aconselhamento farmacêutico ao nível dos meus objetivos, o período estágio estava quase no seu término.

Considero que esta barreira poderá ser parcialmente combatida ao longo do plano curricular do MICF, através do estímulo por uma componente prática relacionada com o atendimento e aconselhamento farmacêutico, aliadas à componente teórica das diversas unidades curriculares lecionadas.

2.3 Opportunities (Oportunidades)

2.3.1 Formação complementar contínua

Decorrente da constante evolução do mercado e da ciência e tecnologia associadas aos diversos produtos disponíveis para venda na farmácia, é essencial que exista um plano formativo complementar contínuo, de forma a que o farmacêutico consiga estar apto a providenciar os melhores cuidados aos utentes da farmácia

No decorrer do meu estágio, foi-me oferecida a oportunidade de participar em diversas formações, nomeadamente relacionadas com as áreas da suplementação alimentar, dermofarmácia e cosmética. Estas tinham a duração de cerca de quatro horas, ocupando geralmente todo o período da manhã ou da tarde, durante as quais eram expostos os produtos da marca em questão, sendo que o principal foco era dado às aplicações dos produtos, incluindo situações patológicas nas quais os mesmos seriam indicados. No caso de formações da área da cosmética, eram também apresentadas as características tecnológicas dos produtos que os destacavam enquanto vantagem para o utente.

Estas formações foram essenciais para completar a minha aquisição de conhecimentos, tendo-se mostrado muito úteis em situações de atendimento seguintes.

2.3.2 Localização da farmácia

A Farmácia de Celas está situada na Estrada de Coselhas, em Coimbra, nas proximidades de diversas unidades hospitalares (Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, CUF Coimbra, Hospital da Luz e Hospital Pediátrico). Esta localização leva a que uma elevada fração dos seus utentes sejam apenas de passagem, originando uma grande heterogeneidade de atendimentos, não só nos medicamentos e receitas médicas, mas também na faixa etária e personalidade das pessoas. Apesar disto, a farmácia tem ainda alguns prédios e moradias à sua volta, levando também à existência de utentes habituais, que tive a oportunidade de acompanhar ao longo do estágio.

A elevada diversidade de utentes que experienciei revelou-se uma grande oportunidade de aprendizagem pessoal, levando-me a contactar com um grande leque de situações diferentes e a superar diversos desafios ao balcão de atendimento. Terminei o estágio com uma perceção muito maior da importância de o atendimento ser adequado e personalizado ao utente em questão, de forma a prestar o melhor serviço possível.

2.3.3 Cartão Saúde

O cartão Saúde é o cartão da rede nacional das farmácias portuguesas associadas à Associação Nacional das Farmácias (ANF). Entre outras vantagens da sua adesão, este cartão permite aos utentes que, ao deslocarem-se a uma farmácia aderente, através da compra de MNSRM e produtos como de bem-estar e cosmética, vão acumulando pontos, sem encargos financeiros adicionais, que podem ser posteriormente trocados por outros produtos.

A Farmácia de Celas não só é aderente ao cartão Saúde, como tem uma equipa extremamente focada e empenhada na dinamização do mesmo. Desde o início do meu estágio que fui ensinado a encarar as vantagens deste cartão como um complemento à oferta que a farmácia pode dar aos seus utentes, acrescentando-lhes uma pequena melhoria no seu dia-a-dia através dos benefícios que estes produtos oferecidos podem conferir. Através disto, é possível marcar a diferença, garantindo que o utente, satisfeito com o complemento que levou consigo no final do atendimento, tem essa farmácia como referência e mais rapidamente regressa lá.

Adicionalmente, o cartão Saúde serve como uma eficaz ferramenta de identificação da pessoa presente no atendimento, um dado crucial para uma correta perceção do perfil de utentes que se desloca à farmácia, permitindo uma correta adaptação da mesma ao mercado.

2.4 Threats (Ameaças)

2.4.1 Encargos financeiros nas receitas eletrónicas

É consenso geral que a introdução das receitas médicas eletrónicas trouxe inúmeras melhorias no dia-a-dia da população, permitindo não só um maior número de medicamentos por receita médica, mas também que estes vão sendo comprados à medida que são necessários, em oposição a ser requerida a sua aquisição total de uma só vez. As suas vantagens estendem-se ainda à diminuição do erro na atribuição do medicamento incorreto, conferindo uma maior segurança ao ato farmacêutico.

As receitas eletrónicas dispõem ainda de uma coluna, designada de “encargos”, onde consta “*Esta prescrição custa-lhe, no máximo, xx,xx€, a não ser que opte por um medicamento mais caro*”. Na teoria, esta informação contribui para um doente mais informado, que consegue, com antecedência, planear e adaptar as despesas em medicação à sua realidade financeira. No entanto, devido às frequentes alterações no Preço de Venda ao Público (PVP) e no valor participado dos medicamentos, torna-se impossível assegurar que esta informação

impresa se mantém atualizada aquando do atendimento. No decorrer do meu estágio, várias foram as situações em que o valor indicado não correspondia ao real, tendo gerado um sentimento de desconfiança por parte do utente da farmácia, um serviço que se quer o mais próximo possível da população.

2.4.2 Medicamentos esgotados

Uma realidade com a qual contactei pela primeira vez durante o meu período de estágio foi o elevado de número de medicamentos indisponíveis nas farmácias devido ao facto de se encontrarem esgotados nos diferentes fornecedores. Apesar de, por ter familiares a realizar terapêuticas com medicamentos que se encontraram nesta situação, já ter uma noção prévia da existência desta problemática, apenas no decorrer do estágio curricular me apercebi da dimensão e proporção da mesma. Entre janeiro e abril de 2019, este foi o caso de medicamentos como *Lasix*[®], *Sinemet*[®], *Aspirina GR*[®], *Twynsta*[®], *Trajenta*[®], entre tantos outros.

Para além do claro prejuízo direto para o utente, que vê impedido o acesso à medicação que lhe é necessária (mesmo que exista um medicamento genérico disponível, a substituição nem sempre é facilmente aceite por toda a população), esta é também uma ameaça para a própria farmácia, que fica impossibilitada de realizar a dispensa da medicação e auxiliar, assim, o utente, ficando impedida de cumprir o seu objetivo maior.

3. Casos Práticos

3.1 Terapêutica da dor de garganta

Uma vez que o meu estágio decorreu entre janeiro e abril de 2019, pude acompanhar e, mais tarde, participar em diversas situações de aconselhamento farmacêutico relacionadas com gripes e constipações, dada a elevada presença deste tipo de patologias nesta época do ano. Um dos sintomas mais comuns neste tipo de situações é a dor de garganta, cuja terapêutica não sujeita a prescrição médica é consideravelmente ampla, permitindo ao farmacêutico uma grande liberdade no aconselhamento e, através de questões no decorrer do atendimento, um correto direcionamento do utente para a terapêutica mais adequada.

Foi-me solicitada, com bastante frequência, a dispensa de *Mebocáina Forte*[®] (cuja constituição é tirotricina, cloreto de cetilpiridínio e oxibuprocaína) para o alívio da dor de garganta, em parte devido ao impacto do *marketing* e da publicidade a que a população é sujeita

no dia-a-dia [5]. Nestas situações, tentei perceber a intensidade e a gravidade da situação e aconselhar a alternativa mais adequada ao utente tendo em conta questões como os sintomas sentidos e a experiência prévia do utente com alguma medicação, alertando para precauções necessárias como, por exemplo, a possibilidade de uma exacerbação asmática em terapêuticas anti-inflamatórias. Pude constatar que, muitas vezes, a presença de antibiótico na constituição de um medicamento, como é o caso da tioricina na *Mebocaína Forte*[®], confortava os utentes, revelando a necessidade da ação do farmacêutico no esclarecimento relativo à utilização do mesmo e aos quadros em que o mesmo se justifica.

3.2 Medicamentos psicotrópicos

Uma utente apresentou-se na farmácia, saída de uma consulta no hospital, queixando-se de dores intensas e contínuas. Apresentava uma receita com, entre outros medicamentos, três caixas de adesivos transdérmicos de fentanilo na dosagem mais baixa (12,5 µg/h). Por se tratar de um fármaco opióide, da classe dos medicamentos psicotrópicos, alertei para a necessidade de uma correta utilização do medicamento, cumprindo a terapêutica definida pelo médico. Em conversa com a utente, percebi que, dentro de duas semanas, esta teria uma nova consulta para acompanhamento da terapêutica, na qual o médico poderia aumentar a dosagem do medicamento. Ao olhar para a posologia instituída pelo médico e o número de adesivos que cada caixa continha, constatei que uma caixa era suficiente para cobrir as duas semanas de terapêutica, pelo que aconselhei a utente a levar apenas uma caixa. A utente concordou, mas, ao aperceber-se do custo de cada caixa do medicamento (devido à comparticipação, este era inferior a 0,50€), preferiu levar as três, evitando uma nova deslocação à farmácia no caso da dosagem da terapêutica se manter após a consulta. Nesta situação, realcei a necessidade do cumprimento da posologia instituída e que, em caso de aumento da dosagem após a consulta e a conseqüente não utilização das restantes duas caixas, este medicamento não deveria ser utilizado no futuro, apenas em situações de expressa indicação médica, sempre precedidas por uma consulta, e nunca por auto-medicação.

4. Considerações Finais

Após quatro meses de estágio na Farmácia de Celas, posso afirmar que termino esta etapa melhor preparado para o mundo profissional com o qual contactarei no término do MICF. Desenvolvi valências de organização, gestão e de adaptação a um novo contexto profissional e trabalhei a vertente do atendimento e aconselhamento farmacêutico, através da aplicação dos conhecimentos que me foram instruídos ao longo dos cinco anos de estudos.

Nesta reta de análise final, sinto-me afortunado por ter tido a oportunidade de realizar o meu estágio curricular na Farmácia de Celas, pela sua equipa e serviço de excelência, que me permitiram crescer enquanto profissional de saúde, tendo-me sido instruída uma constante preocupação com o bem-estar final do utente enquanto valor principal da profissão farmacêutica.

Concluo esta fase mais capacitado e, acima de tudo, mais consciente do ato farmacêutico e da exigência constante que é ser farmacêutico em contexto de farmácia comunitária. A margem para aprendizagem ainda é, e sempre será, grande, mas sinto-me grato por estes quatro meses de contínuo crescimento profissional e pelo impacto que tiveram no meu desenvolvimento pessoal.

Parte II

Relatório de Estágio

Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A.

Lista de Abreviaturas

AI – Auditoria Interna

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF – Boas Práticas de Fabrico

FDA – *Food and Drug Administration*

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FSI – *Flash Self-Inspection*

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

QM – *Quality Management*

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

O conteúdo programático e a abrangência do plano curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) permitem a preparação de profissionais de saúde capazes de atuar nas diferentes áreas do ciclo do medicamento, nomeadamente, na indústria farmacêutica. Nesta, o farmacêutico pode atuar em diversos campos de ação, desde investigação, controlo de qualidade, desenvolvimento analítico e galénico, assuntos regulamentares e gestão e garantia de qualidade.

Desta forma, optei por, em adição ao período em farmácia comunitária, realizar um estágio curricular em indústria farmacêutica, por forma a ter um primeiro contacto com esta área profissional ainda no decorrer do curso, permitindo uma abertura de horizontes e uma maior clareza relativamente às saídas profissionais após o término deste. Na sequência de um processo de candidatura e entrevista, foi-me dada a oportunidade de estagiar, de maio a julho de 2019, na Bluepharma Indústria Farmacêutica S.A., no Departamento de Gestão da Qualidade (*Quality Management – QM*), sob orientação da Dra. Margarida Mesquita de Carvalho e tutela da Dra. Inês Pereira.

A Bluepharma® iniciou a sua atividade em fevereiro de 2001, altura desde a qual está sediada em São Martinho do Bispo, Coimbra. O seu grupo inclui 18 empresas e a sua unidade fabril produz, maioritariamente, formas farmacêuticas orais sólidas (comprimidos e cápsulas), que comercializa e exporta, como marca própria ou para terceiros, para mais de 40 países [6].

Dos diversos marcos na história da empresa, destacam-se a obtenção, em 2003, das certificações em qualidade (ISO 9001), ambiente (ISO 14001), e segurança e saúde ocupacional (OHSAS 18000), bem como das autoridades regulamentares Food and Drug Administration (FDA), dos Estados Unidos da América, e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), do Brasil, em 2009 e 2016, respetivamente, permitindo a exportação de medicamentos para estes territórios [7]. Estas certificações, para além da relevância estratégica para o negócio, estão intrinsecamente relacionadas com a atividade do Departamento da Gestão da Qualidade, uma vez que parte das suas funções passam por assegurar que a empresa cumpre os requisitos dos vários sistemas pelos quais está certificada, bem como garantir que cada nova certificação num diferente território implica igualmente o cumprimento dos requisitos regulamentares locais.

Devido à abrangência e diversidade das suas competências, o Departamento QM da Bluepharma® está dividido internamente em várias áreas: Ambiente e Segurança, Auditorias, Suporte Científico, Fornecedores e Clientes e Processos de Qualidade. Durante os três meses de estágio estive inserido na equipa de Fornecedores e Clientes, onde auxiliei no contacto

com fornecedores e fabricantes contratados pela Bluepharma[®], por forma a reunir a documentação legal requerida, bem como na gestão da avaliação de risco destes e dos materiais por eles fabricados e/ou fornecidos.

O presente relatório, construído com base numa análise SWOT, pretende relatar o período de três meses em que estive inserido na Bluepharma[®], com foco nas Forças (S – *Strengths*), Fraquezas (W – *Weaknesses*), Oportunidades (O – *Opportunities*) e Ameaças (T – *Threats*) da experiência vivida no decorrer do estágio [1].

2. Análise SWOT

2.1 Strengths (Forças)

2.1.1 Cultura de Qualidade

Um princípio, aparentemente simples, de qualidade associada à indústria farmacêutica é de que a qualidade não está apenas no produto, mas também em tudo o resto: nas instalações, na documentação, no comportamento dos colaboradores, nas regras de fardamento, etc., permitindo que um fabricante crie, com maior segurança, produtos com qualidade.

A noção de que todos requisitos – e a própria existência – de uma indústria assentam na gestão da sua qualidade foi-me inculcada desde o primeiro dia, despoletando em mim a necessidade e vontade de realizar o meu trabalho com o máximo rigor, quer fosse na documentação produzida, na interligação com os restantes departamentos ou nas atitudes. A existência de uma cultura de qualidade, transversal a toda a Bluepharma®, permite a eficaz gestão de todos processos, sistema documental, alterações e desvios, uma tarefa na qual o Departamento QM tem um papel preponderante.

2.1.2 Transversalidade do Departamento QM

O Departamento QM tem, a partir da própria definição de qualidade, um campo de ação extremamente vasto e diferenciado. Passam pelas suas competências a gestão de tudo o que envolve ambiente e segurança (desde a proteção dos colaboradores, preocupação com a sustentabilidade ambiental a gestão dos resíduos da empresa), o sistema documental, desvios de qualidade, gestão de alterações, auditorias e inspeções e a avaliação e qualificação dos seus fornecedores (quer eles sejam de matérias primas, de materiais de embalagem ou de serviços essenciais ao funcionamento da empresa). Dada esta diversidade de funções, há um permanente contacto com os restantes departamentos da indústria, quer seja através de pedidos de documentação ou contacto com os fornecedores, de visitas de segurança periódicas à fabricação e laboratórios ou de auxílio no que concerne aos procedimentos documentais.

No início do meu período de estágio, os responsáveis por cada uma destas funções ministraram-me pequenas formações, contextualizando e apresentando-me o seu dia-a-dia de trabalho, o que me permitiu obter uma noção clara da transversalidade do departamento. Por sua vez, esta intrínseca ligação aos restantes departamentos possibilitou que eu termine estes

três meses de estágio com uma visão mais abrangente e global do trabalho desenvolvido numa indústria farmacêutica, um conceito que, certamente, não seria tão vivo se tivesse estagiado num departamento mais independente.

2.1.3 Aplicação de conhecimentos

Após quatro anos e meio de estudos e dedicação à componente teórica das ciências farmacêuticas, foi com muita gratidão que constatei que, no decorrer do estágio curricular, pude aplicar muitos dos conhecimentos adquiridos.

Para um farmacêutico de indústria são essenciais, em primeira instância, os conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares de Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica (I, II e III). No que à gestão da qualidade concerne, são também imprescindíveis unidades curriculares como Gestão e Garantia de Qualidade e Assuntos Regulamentares do Medicamento para uma correta contextualização da componente regulamentar e documental associada a este ramo profissional.

2.1.4 Metodologia Kaizen

Nos últimos anos, a Bluepharma[®] tem vindo a adaptar o seu funcionamento e processos à metodologia *Kaizen*, que estabelece uma filosofia centrada na mudança (“*Kai*”) para melhor (“*Zen*”), com foco na melhoria contínua e na integração de toda a equipa na mesma [2]. Pretende-se uma otimização dos processos e dos resultados de toda a indústria, não apenas no que concerne às áreas da produção e embalagem, mas também aos laboratórios e escritórios.

No que ao Departamento QM diz respeito, a metodologia *Kaizen* é observável, primordialmente, através das reuniões diárias de departamento. Estas têm uma duração fixa de quinze minutos e têm por base uma agenda e um plano de trabalho, que inclui as tarefas que o departamento tem em mão de momento, bem como os responsáveis por cada uma destas e o seu grau prioritário. No decorrer destas reuniões, cada colaborador, organizados pelas respetivas áreas de divisão interna do departamento, tem a oportunidade de atualizar a restante equipa no trabalho desenvolvido, sendo este um espaço de excelência para interajuda e partilha de conhecimentos entre todos.

Esta abordagem e, concretamente, as reuniões diárias, permitiram que rapidamente me integrasse não só no trabalho desenvolvido pelas diferentes áreas do departamento, mas também em conceitos e procedimentos específicos de indústria farmacêutica e da área da gestão da qualidade. Desta forma, considero que a aplicação da metodologia *Kaizen* é uma mais valia para uma empresa, uma vez que permite não só um aumento da eficiência da atividade realizada, mas também uma mais rápida integração de novos colaboradores nas dinâmicas próprias da organização e da equipa de trabalho.

2.1.5 Visitas diárias

Como parte essencial da manutenção do Sistema de Gestão Integrado da Qualidade, é requerida a realização periódica de auditorias internas aos diversos departamentos e setores da empresa. Na organização interna da Bluepharma®, estas dividem-se em Auditorias Internas (AI) propriamente ditas, preparadas antecipadamente e com parâmetros previamente definidos, e em *Flash Self-Inspections* (FSI), de natureza espontânea, realizadas sempre que se verifique a sua necessidade. Na sua maioria, as FSI estão associadas a visitas diárias por parte de elementos do Departamento QM às instalações da empresa nas áreas da produção, embalagem, laboratórios e exteriores.

Num primeiro nível, estas visitas permitiram-me uma familiarização com as zonas da fabricação e laboratórios, facilitando o acompanhamento das temáticas discutidas em seio de reunião diária de departamento. Mais importante ainda, permitiram que fosse desenvolvendo a capacidade de detetar situações possíveis de originar não-conformidades, despertando-me para a necessidade de ser rigoroso no que a assuntos de qualidade concerne.

2.2 Weaknesses (Fraquezas)

2.2.1 Duração do Estágio

Apesar da duração do estágio curricular em indústria farmacêutica ser a que permite que os alunos consigam conciliar o mesmo com o estágio curricular em farmácia comunitária, de cariz obrigatório, considero que este é insuficiente para uma plena experiência deste ramo profissional, permitindo apenas uma introdução e consciencialização do mesmo.

Se, por um lado, a qualidade é uma área tão vasta e transversal, esta é também, por si só, um processo contínuo, tornando-se difícil assimilar todos os conceitos e procedimentos inerentes em apenas três meses. Acresce que muitas das tarefas que me foram atribuídas são

parte integrante de processos maiores que pude acompanhar, não sendo possível ver o seu término efetivo.

2.3 Opportunities (Oportunidades)

2.3.1 Plano de formação

Dadas as crescentes exigências e o contexto único regulamentar em que se insere uma indústria farmacêutica, torna-se essencial a constante formação dos colaboradores, por forma a assegurar que estes desempenham corretamente as suas funções e que compreendem o contexto dos diferentes departamentos e das medidas de orientação e segurança existentes em todos os procedimentos.

Neste sentido, aquando do início do meu estágio, foi-me dada a oportunidade de assistir a diversas sessões formativas, inseridas no processo de acolhimento de novos colaboradores na Bluepharma[®]. Estas abordaram temáticas como Evolução da Bluepharma[®], Investigação, Desenvolvimento e Inovação, Farmacovigilância, Assuntos Regulamentares, Boas Práticas de Fabrico (BPF), Ambiente, Saúde e Segurança no Trabalho, Melhoria Contínua, entre outras. Estas tiveram um papel fundamental na minha contextualização no estágio, relembrando-me de diversos conceitos lecionados no decorrer do MICEF. O facto de não haver distinção na admissão entre estagiários e restantes colaboradores a este nível é, ainda e por si só, uma excelente oportunidade de crescimento e formação profissional.

2.3.2 Presença em inspeções da FDA e do Infarmed

As certificações que permitem que uma indústria possa exportar os seus produtos para determinados mercados são emitidas pelas respetivas autoridades regulamentares dos territórios em questão. A obtenção da mesma implica que a indústria cumpra um número de pré-requisitos de qualidade, os quais são auditados através de inspeções conduzidas às instalações, documentação, registos e procedimentos, sendo que a renovação da certificação implica a realização de uma nova inspeção num período máximo de 3 anos desde a auditoria anterior [8]. Sendo o Departamento QM responsável pela gestão de auditorias, documentação e do Sistema de Gestão Integrado de Qualidade na sua globalidade, este está intimamente ligado e responsável pela preparação e acompanhamento destas inspeções.

Apesar da baixa periodicidade das inspeções de autoridades regulamentares comparativamente à duração do meu estágio, tive a oportunidade de presenciar duas inspeções de diferentes autoridades regulamentares à Bluepharma®: FDA e Infarmed. Como consequência, pude observar não só toda a preparação prévia que a indústria e o Departamento QM fazem para estas, como pude também experienciar o ambiente e exigência que recai sobre um departamento da área de qualidade nestas situações.

Dada a diminuta probabilidade de um estágio curricular de três meses coincidir com uma inspeção (quanto mais, duas) da dimensão das referidas, considero uma oportunidade ter podido presenciar as mesmas, tendo contribuído para uma consciencialização e conhecimento ainda mais abrangentes do âmbito da indústria farmacêutica.

2.4 Treaths (Ameaças)

2.4.1 Crescentes exigências de qualidade

Decorrente de auditorias e inspeções à indústria farmacêutica, podem surgir não-conformidades, observações e sugestões de melhoria, às quais se espera que a empresa responda, adaptando os seus procedimentos e documentação de forma a corresponder ao exigido pelas entidades auditoras.

Dado o elevado número de territórios para onde a Bluepharma® exporta os seus produtos e o crescente número de clientes para quem fabrica medicamentos, a mesma acolhe uma elevada quantidade de auditorias e inspeções às suas instalações, das quais surge, na sua larga maioria, necessidade de sucessivas alterações e adaptação aos requisitos de qualidade. Apesar de uma alteração no sentido de obter uma melhoria de qualidade constituir, no seu sentido primordial, uma vantagem para o consumidor e para a própria indústria, o Departamento QM, tendo em conta a sua essência, e o volume de trabalho associado aos seus colaboradores são, naturalmente, largamente afetados por estas crescentes exigências.

2.4.2 Abordagem no MICF

Conforme referido nas forças desta análise SWOT, o plano curricular do MICF na FFUC engloba diversas unidades curriculares relevantes ao exercício da função farmacêutica na área de indústria e, concretamente, de gestão de qualidade, muitas das quais não são contempladas nos planos de estudos do MICF das restantes faculdades e instituições de ensino

superior do país. No entanto, considero que a abordagem que é feita a temáticas relacionadas com qualidade não é a mais adequada, uma vez não transmite uma correta noção da abrangência e transversalidade desta área, tendo o seu foco na documentação e certificação.

Dada a sua relevância para o contexto da indústria farmacêutica, e usando a minha experiência pessoal como contextualização, identifico este facto como uma ameaça à completa formação de futuros farmacêuticos, bem como ao interesse dos mesmos por esta área.

3. Considerações Finais

O estágio curricular em indústria farmacêutica, particularmente no Departamento QM da Bluepharma®, revelou-se uma experiência de enorme enriquecimento pessoal e profissional, na qual pude adquirir inúmeros conhecimentos relacionados com a área da gestão e garantia de qualidade, bem como competências-chave que, indubitavelmente, se revelarão extremamente úteis e me deixarão mais preparado e confiante aquando da minha entrada no mercado de trabalho.

Várias foram as situações em que pude aplicar e interligar os conhecimentos adquiridos ao longo do plano de estudos do MICF, tendo o estágio curricular servido como uma adequada conclusão do mesmo. O estágio permitiu que melhor compreendesse os diferentes campos de atuação de um departamento da área da gestão da qualidade, bem como a sua interligação aos restantes setores da indústria farmacêutica.

Considero ter tirado o melhor partido desta experiência, tendo alcançado todos os objetivos que defini aquando da escolha do meu estágio e outros que me foram sendo propostos no decorrer deste. Esta componente prática de contextualização profissional é, decididamente, uma porção essencial da formação do futuro farmacêutico.

Sinto uma imensa gratidão pela oportunidade que me foi concedida, devido à experiência transversal e dinâmica que o estágio nesta área das ciências farmacêuticas me proporcionou e à equipa de excelentes profissionais que me acolheu e acompanhou. Pelo rigor, cultura e valores de qualidade pela qual se pauta diariamente, a Bluepharma® revelou-se a escolha ideal para a realização desta primeira etapa da minha vida profissional.

Parte III

Monografia

“GPR30: Funções do Recetor I de Estrogénio Acoplado à Proteína G”

Lista de Abreviaturas

- BSA** – Albumina Sérica Bovina
- cAMP** – Monofosfato Cíclico de Adenosina
- DNA** – Ácido Desoxirribonucleico
- EGF** – Fator de Crescimento Epidermal
- EGFR** – Recetor do Fator de Crescimento Epidermal
- ER** – Recetor de Estrogénio
- ERE** – Elemento de Resposta ao Estrogénio
- GH** – Hormona do Crescimento
- GHR** – Recetor da Hormona do Crescimento
- GPCR** – Recetor Acoplado à Proteína G
- GP-ER-I** – Recetor I de Estrogénio Acoplado à Proteína G
- GPR30** – Recetor 30 Acoplado à Proteína G
- GR** – Recetor de Glicocorticoides
- HB-EGF** – Fator de Crescimento Epidermal Ligado à Heparina
- HSP90** – Proteína de Choque Térmico de 90 kDa
- IGF-I** – Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo I
- IUPHAR** – *International Union of Basic and Clinical Pharmacology*
- MAPK** – Proteína Cinase Ativada por Mitogénio
- MMP** – Metaloproteinases da Matriz
- mRNA** – Ácido Ribonucleico Mensageiro
- NO** – Óxido Nítrico
- PI3K** – Fosfatidilinositol 3-cinases
- PKB** – Proteína Cinase B
- RNA** – Ácido Ribonucleico

SERD – Degradador Seletivo dos Recetores de Estrogénio

SERM – Modulador Seletivo dos Recetores de Estrogénio

TGF- β – Fator de Transformação do Crescimento Beta

VDR – Recetor da Vitamina D

Resumo

Foram identificados três tipos de diferentes recetores de estrogénio no organismo do ser humano: o recetor de estrogénio alfa, o recetor de estrogénio beta (que constituem o grupo dos recetores clássicos de estrogénio) e o recetor I de estrogénio acoplado à proteína G (GPER-1), cuja descoberta é a mais recente. Dentro da célula, este recetor tem uma localização maioritariamente transmembranar, ao contrário da localização primordialmente nuclear dos recetores clássicos, sendo expresso em diversos tecidos celulares do corpo humano, incluindo nos órgãos reprodutores, rins, coração, pâncreas e músculo esquelético. O seu nível de expressão é dependente do tipo de tecido em questão e das características fisiológicas do indivíduo, como o sexo, a idade e o seu estado fisiopatológico. Para além da sua descoberta mais recente, este recetor tem relevo pelas diversas e complexas vias de sinalização que inicia após a ligação de uma molécula de estrogénio, estando envolvido em estratégias terapêuticas para diferentes patologias desde tumores, problemas de fertilidade, distúrbios metabólicos, entre outros. Tendo em conta o facto de o tecido mamário ser altamente sensível ao estradiol, o estudo do GPER-1 e dos seus efeitos e potencial terapêutico têm destaque na procura de terapêuticas específicas e eficazes contra o cancro da mama.

Palavras-chave: Estrogénio, GPER-1, Recetor, Cancro, Terapêutica.

Abstract

There have been identified three different types of estrogen receptors in the human organism: the estrogen receptor alpha, the estrogen receptor beta (who form the classical estrogen receptors group) and the G protein-coupled estrogen receptor I (GPER-I), whose discovery is the most recent one. In the cell, this receptor is mostly localized on the membrane, contrarily to the mostly nuclear localization of the classical estrogen receptors, and it is expressed in different cellular tissues of the human body, including in the reproductive organs, kidneys, pancreas and skeletal muscle. Its level of expression depends of the type of tissue it is located on and of the physiological characteristics of the person, such as the gender, age and physiopathological status. Besides its most recent discovery, this receptor has importance because of the diverse and complex signalization pathways that start with the binding of an estrogen molecule, being involved in therapeutic strategies for different diseases such as tumors, fertility issues, and metabolic problems, among others. As the mammary tissue is highly sensitive to estradiol, the study of its effects and therapeutic potential have prominence in the search for specific and effective therapies against breast cancer.

Keywords: Estrogen, GPER-I, Receptor, Cancer, Therapeutic.

1. Introdução

Os estrogénios são hormonas esteroides produzidas em diversos órgãos e tecidos do corpo humano masculino e feminino, como nas gónadas, nas glândulas suprarrenais e no tecido vascular arterial [9]. Estes são reguladores da proliferação celular, crescimento ósseo e pressão arterial, tendo ainda um papel no metabolismo da glucose e dos lípidos [10,11].

Nos mamíferos, é possível encontrar várias formas de estrogénios, sendo o estradiol a sua forma mais relevante, com particular destaque para o composto 17 β -estradiol. Apesar de ser associado maioritariamente como a hormona sexual feminina, devido ao seu papel no desenvolvimento dos órgãos femininos e das restantes características sexuais, tem também um impacto significativo no desenvolvimento masculino, pelo que os seus valores de referência variam do homem para a mulher e, no caso desta, com o ciclo menstrual [12,13].

Para além do seu papel no âmbito do sistema reprodutivo, o estradiol apresenta ainda funções em diversas áreas do corpo humano, incluindo o sistema nervoso, imunitário, vascular, muscular e endócrino. Como tal, interrupções na sua ligação aos recetores ou na posterior cadeia de transmissão de sinal podem levar a diferentes condições fisiopatológicas, desde perturbações a nível do metabolismo celular e de doenças cardiovasculares a desenvolvimento cancerígeno ou alterações ou do foro psicológico [14].

Paralelamente à sua transversalidade de funções e larga distribuição pelo corpo humano, o estudo da ação e importância destas moléculas é ainda dificultado pela existência de diversos recetores de estrogénio (ER) e mecanismos de sinalização celular a estes associados. Durante vários anos, o conhecimento estendia-se apenas aos recetores clássicos ER α e ER β , cuja localização é predominantemente nuclear. No entanto, nem todos os efeitos do 17 β -estradiol (especialmente os mais rápidos) eram explicáveis pela sua ligação a estes, até que, em 1997, foi descoberto um recetor transmembranar, inicialmente nomeado de Recetor 30 Acoplado à Proteína G (GPR30, do inglês *G Protein-Coupled Receptor 30*), mais tarde retificado para Recetor 1 de Estrogénio Acoplado à Proteína G (GPER-1, do inglês *G Protein-Coupled Estrogen Receptor-1*) [14,15].

A presença do GPER-1 é observável por todo o corpo humano, incluindo o coração, pâncreas, músculo esquelético, rins e órgãos reprodutores, sendo o seu nível de expressão dependente do tipo de tecido e das características fisiológicas do indivíduo, como o sexo, a idade e o estado fisiopatológico [16].

Dadas as diferenças na ligação entre o estrogénio e os diferentes tipos de recetores, a ampla distribuição destes recetores pelo corpo humano e o seu envolvimento em diferentes processos fisiológicos e fisiopatológicos, o estudo das interações envolvendo derivados de estrogénio (em particular, o 17 β -estradiol) e os seus recetores adquire amplo relevo, particularmente na descoberta de novas terapêuticas com base nestas ligações. O GPER-1 destaca-se não só pela sua descoberta mais recente, mas também pelas complexas – e ainda não totalmente compreendidas – vias de sinalização rápidas que inicia, comparativamente aos efeitos maioritariamente a nível genómico do ER α e do ER β [10].

2. Recetores de estrogénio

2.1 ER α e ER β

A existência de um recetor de estrogénio foi comprovada pela primeira vez em 1958 por Elwood Jensen, através da demonstração da presença de um componente proteico intracelular nos ovários que se ligava especificamente ao estrogénio. Este primeiro recetor, posteriormente denominado por ER α , é expresso maioritariamente no fígado, rins, tecido adiposo e nos tecidos reprodutivos femininos, como o útero e os ovários [17,18].

Durante vários anos, pensou-se que este seria o recetor primário na regulação de toda a atividade estrogénica nos tecidos alvo até que, em 1996, foi demonstrada a existência de um segundo recetor, nomeado ER β . Apesar de alguns dos seus locais de expressão serem similares aos do ER α , como os ovários e o fígado, este pode também ser encontrado em tecidos do sistema nervoso central, sistema cardiovascular, sistema imunitário, pulmões e órgãos do sistema reprodutivo masculino [17,19].

Quer o ER α , quer o ER β , são identificados como sendo os recetores clássicos de estrogénio, fazendo parte da família dos recetores nucleares. Como tal, a sua localização dentro da célula é, maioritariamente, no núcleo, encontrando-se apenas cerca de 5% no citoplasma ou nas mitocôndrias [17,19]. Ambos são compostos por cinco domínios funcionais (nomeados de A a F): o domínio A/B N-terminal (terminação amino), que é, por vezes, considerado como dois domínios distintos, inclui a primeira zona crucial para a resposta transcricional (AF-1) e aminoácidos envolvidos em modificações pós-translacionais; o domínio C, onde ocorre a ligação do recetor ao ácido desoxirribonucleico (DNA); o domínio D, a região da dobradiça, que contém sequências de aminoácidos que promovem a localização nuclear e modificações pós-translacionais; e os domínios E e F, que contêm a porção C-

terminal (terminação carboxilo) do recetor, onde ocorre a acoplação dos ligandos, e a segunda zona crucial à resposta transcricional (AF-2). As funções do domínio F não se encontram ainda totalmente esclarecidas, mas este poderá afetar a atividade agonista e antagonista de moléculas nestes recetores, bem como a sua dimerização. Apesar da elevada homologia entre estes dois tipos de recetores clássicos, a região onde ocorre a acoplação aos ligandos apresenta diferenças estruturais, o que facilita a identificação e desenvolvimento de ligandos específicos para o ER α e para o ER β [12,21].

A ligação do 17 β -estradiol endógeno ou de derivados sintéticos através da região de acoplação de ligandos localizada na região C-terminal é responsável pela atividade dos recetores clássicos de estrogénio. Desta ligação podem originar modificações conformacionais dos recetores, dimerização e ligação a porções específicas de DNA ou interações com proteínas coreguladoras. Cada subtipo de ligando específico origina uma conformação específica dos ER, que por sua vez promove interações com diferentes proteínas. O nível de expressão dos dois recetores é ainda um fator determinante na resposta destes ao 17 β -estradiol e aos agonistas e antagonistas dos ER: um aumento da expressão do ER β demonstrou ser um fator inibitório da resposta do ER α ao 17 β -estradiol e do agonismo do fármaco tamoxifeno, potenciando o seu antagonismo [21].

Estudos em que foram usados ratos nos quais foi eliminado o gene que codifica o ER α (Esr1) sugerem que este recetor pode ter importantes funções a nível cardiovascular, concretamente na proteção deste sistema, podendo ser responsável pelo efeito protetor dos estrogénios contra danos vasculares. Os resultados são consistentes com dados de estudos em humanos, que indicam que um diminuto nível de expressão do ER α poderá estar associado a um acrescido risco de surgimento de placas ateroscleróticas, especialmente em mulheres pré-menopáusicas. Paralelamente, estudos realizados em ratos nos quais foi eliminado o gene que codifica o ER β (Ers2) revelam um aumento na formação de osso compacto e perda de osso esponjoso. A depleção do gene Ers2 parece também ter efeitos protetores na resistência à insulina e intolerância à glucose [12].

2.2 GPER-1

A desperta para a possibilidade da existência de outro tipo de recetores de estrogénio para além dos recetores clássicos ER α e ER β ocorreu quando começou a ser perceptível que alguns dos efeitos dos estrogénios não eram explicáveis exclusivamente pelos mecanismos

destes recetores. O recetor de estrogénio transmembranar GPER-1 foi identificado inicialmente como um recetor órfão no final dos anos 90, não tendo sido descoberto nenhum ligando específico para este. Com base nos poucos dados existentes sobre o mesmo na altura e na sua inserção na família dos recetores acoplados à proteína G, foi inicialmente denominado por Recetor 30 Acoplado à Proteína G, GPR30 [10,17,20].

No ano 2000 foi removida a sua caracterização enquanto recetor órfão, tendo sido comprovada a sua influência na ativação de vias de sinalização rápidas associadas aos estrogénios e, em 2007, este recetor recebeu a designação oficial de Recetor 1 de Estrogénio Acoplado à Proteína G, GPER-1, pela *International Union of Basic and Clinical Pharmacology* (IUPHAR) [10].

Hoje em dia, sabe-se que o GPER-1 não tem apenas um papel importante no sistema reprodutor e vascular, encontrando-se expresso por todo o corpo humano, incluindo o coração, músculo esquelético, fígado, vasos sanguíneos e órgãos reprodutores. Os seus níveis de expressão variam consoante o tipo de tecido, o sexo e a idade da pessoa e das suas condições fisiológicas e fisiopatológicas, como acontece em casos de cancro pulmonar e endometriose, em que a sua expressão é significativamente maior [16]. Este está ainda envolvido em outras doenças dependentes dos estrogénios, como é o caso de cancros do sistema reprodutor feminino, problemas de fertilidade masculina, obesidade, hipertensão arterial e doenças autoimunes, como esclerose múltipla [10,12].

Apesar dos inúmeros estudos relacionados com este recetor, a sua localização dentro da célula continua a ser relativamente controversa. Inicialmente estudada como sendo ao nível da superfície celular, estudos subsequentes demonstraram, através de métodos de microscopia confocal, que a maioria dos recetores deveriam encontrar-se em membranas intracelulares, incluindo do retículo endoplasmático e do complexo de Golgi. Esta conclusão é suportada por estudos que comprovam existir uma resposta mais rápida e potente com a administração intracelular de um ligando seletivo do GPER-1, comparativamente à sua administração extracelular. Atualmente, a localização nas membranas intracelulares é a mais aceite, embora também tinha sido observado uma pequena percentagem de recetores localizados a nível nuclear [15,20].

À semelhança dos restantes recetores da família dos recetores acoplados à proteína G (GPCR), o GPER-1 contém sete domínios distintos, todos eles transmembranares. A terminação amino localiza-se no exterior celular, sendo frequentemente glicosilada, e a

terminação carboxilo localiza-se no citoplasma, tendo um papel importante na fosforilação por cinases e arrestinas, iniciando vias de sinalização celular [17,20].

O composto 17 β -estradiol apresenta elevada afinidade para o GPER-1 e a sua ligação origina uma rápida ativação de várias cadeias de sinalização intracelulares. A ativação deste recetor pelo estrogénio resulta num aumento da produção de monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), da concentração de Ca²⁺ intracelular e de outras vias de sinalização relacionadas com diversos recetores e moléculas, como o recetor do fator de crescimento epidermal (EGFR). Como tal, o GPER-1 tem uma função preponderante na sinalização rápida e não genómica e consequentes eventos resultantes dependentes do 17 β -estradiol e da sua ligação aos seus recetores [17].

2.3 Vias de sinalização

Foram descritos dois tipos de mecanismo de ação dos estrogénios: um mecanismo genómico, conferido pelos ER clássicos, e um tipo de mecanismo não genómico, de atuação mais rápida, devido maioritariamente à ação do GPER-1 [22,23].

À semelhança de outros recetores de hormonas esteroides, os ER atuam ao nível da expressão génica enquanto dímeros, que se ligam a sequências palindrómicas de DNA – elementos de resposta ao estrogénio (ERE) – e, com o auxílio de coreguladores, estimulam ou inibem a expressão génica. Este mecanismo é bastante similar entre o ER α e o ER β . Inicialmente, ambos os recetores estão localizados no citosol das células, na forma de monómeros, complexados com a proteína de choque térmico de 90 kDa (HSP90). O 17 β -estradiol, devido ao seu carácter lipofílico, entra na célula por difusão passiva através da membrana celular e, ao ligar-se ao ER, induz uma modificação conformacional deste, concretamente na zona de acoplação de ligandos do terminal carboxilo [20,24]. Paralelamente, esta ligação induz a libertação da HSP90 do recetor para o citosol da célula e permite a subsequente dimerização com outros monómeros livres. A dimerização dos monómeros pode originar homodímeros (ER α -ER α ou ER β -ER β) ou heterodímeros (ER α -ER β) [12].

Após a sua dimerização, os complexos ER-estrogénio entram no núcleo celular e, através da zona de ligação ao DNA localizada no domínio C do ER, ligam-se aos ERE nos promotores do gene alvo. Para se iniciar o processo de transcrição, é necessário que diversos cofatores e uma RNA-polimerase se liguem ao ER ativado. A RNA-polimerase vai sintetizar o ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) do gene alvo, que é posteriormente exportado do

núcleo para os ribossomas, onde é traduzido em proteínas. Este mecanismo genómico é um processo lento, com duração variável de várias horas [12,24,25].

A ligação de uma molécula de 17β -estradiol é um passo crucial do mecanismo, uma vez que induz a reorganização conformacional do ER, que o converte a funcionalmente ativo, permitindo a sua dimerização e posterior entrada no núcleo celular. O processo de dimerização é também decisivo, uma vez que mutações que interfiram com este passo levam a que o ER se torne inativo na perspetiva da transcrição [22].

Os ER clássicos podem ainda ser encontrados na membrana celular. Caso um aminoácido cisteína do ER α ou ER β sofra palmitoilação, ocorre interação do ER com a proteína caveolina-1, que serve como transportadora deste até às cavéolas de caveolinas situadas na membrana celular. Os ERs que passam por palmitoilação são transportados até à membrana enquanto monómeros, ocorrendo a dimerização posteriormente. Nas cavéolas, os ER acumulam-se, juntamente com outras moléculas, despoletando cadeias de sinalização rápidas, como a das fosfatidilinositol-3-cinases (PI3K), que por sua vez ativa outras vias de sinalização, como as cascatas de sinalização do Ca^{2+} , cAMP e óxido nítrico (NO), que podem levar à ativação de outros recetores, como o EGFR ou o recetor do fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-1), ou moléculas, como a proteína cinase B (PKB). Estas cadeias originam alguns dos efeitos rápidos da sinalização do estrogénio [12,22].

Paralelamente às vias iniciadas pela ligação do 17β -estradiol aos ER clássicos, a sua ligação ao GPER-1 ativa igualmente várias cadeias de sinalização. Os efeitos dos derivados dos estrogénios no GPER-1 são, de uma forma geral (e não aplicável a todos os casos), caracterizados por serem bastante rápidos (num espaço temporal de minutos ou até segundos), independentes da transcrição de DNA e síntese de novas proteínas e passíveis de serem ativados por estrogénios acoplados a moléculas de elevado peso molecular, como a proteína albumina sérica bovina (BSA), incapazes de atravessar a membrana celular e exercer efeito nos recetores nucleares [22,26].

Após a ligação da molécula de 17β -estradiol ao GPER-1, são ativadas proteínas G, compostas por três subunidades (denominadas por α , β e γ). De seguida, a subunidade $G\alpha$ dissocia-se do restante complexo ($G\beta\gamma$) e cada uma destas porções da proteína G ativa cadeias sinalizadoras diferentes. A subunidade $G\alpha$ estimula a ação da enzima adenilil ciclase, que leva a um aumento da produção de cAMP e da concentração intracelular de Ca^{2+} , podendo influenciar uma grande variedade de processos, desde atividade enzimática, contração muscular ou secreção hormonal [26].

O rápido aumento da concentração intracelular de Ca^{2+} por estímulo estrogénico era inicialmente atribuído ao $\text{ER}\alpha$, mas estudos em células sem este recetor presente auxiliaram na melhor compreensão da existência do GPER-1 e das suas funções. Hoje em dia, sabe-se que o GPER-1 não tem apenas influência no Ca^{2+} de origem intracelular, mas também no influxo deste íon de origem extracelular através dos seus canais tipo L na membrana celular, após estímulo deste recetor com G1, um dos seus agonistas específicos [24].

Por outro lado, após ativação da proteína G e subsequente dissociação da subunidade $G\alpha$, o complexo $G\beta\gamma$ atua a nível das tirosina cinases Src, ativando a via da proteína cinase ativada por mitogénio (MAPK) através da fosforilação destas proteínas cinases. Entre muitos efeitos, esta via leva à diminuição da ativação das proteínas Smad e, conseqüentemente, dos níveis de fator de transformação do crescimento beta ($\text{TGF-}\beta$), podendo exercer influência a nível inflamatório ou imunitário. A ativação do GPER-1 leva também, através das tirosina cinases Src, à estimulação da ação de metaloproteinases da matriz (MMP), que vão clivar e libertar o fator de crescimento epidermal ligado à heparina (HB-EGF), resultando na ativação do recetor EGFR [24,26,27].

3. Interações com o GPER-1

3.1 Interações com outros recetores

Dada a extensa localização quer dos ER clássicos, quer do GPER-1, por todo o corpo humano, ocorrem diversas interações nas suas vias de sinalização. A necessidade da ocorrência destas interações foi identificada em estudos que determinaram que a expressão do GPER-1 é requerida para que ocorra inibição das funções do $\text{ER}\alpha$ em células epiteliais uterinas ou para que, em conjunto com o $\text{ER}\alpha$, exista atividade dependente de estrogénios em células cancerígenas. Adicionalmente, em estudos da função vascular em animais, observa-se vasodilatação dependente de NO recorrendo a agonistas seletivos do $\text{ER}\alpha$, mas não quando os três tipos de recetores de estrogénio ($\text{ER}\alpha$, $\text{ER}\beta$ e GPER-1) são ativados simultaneamente [28,29].

Estas interações entre os diferentes tipos de recetores de estrogénio não só são prováveis de ocorrer, como devem ser tidas em conta aquando do estudo de mecanismos patogénicos e terapêuticos relacionados com os estrogénios e as vias de sinalização adjacentes à ativação dos seus recetores. Estas podem ainda explicar a seletividade de algumas moléculas para certo tipo de recetores ou o seu papel inibitório nos mesmos [29].

Os recetores clássicos de estrogénio não são os únicos cujas vias de sinalização se intercetam com as do GPER-1. A sua ação negativa na atividade do recetor de glicocorticoides (GR) já foi estudada, podendo o GPER-1 ter, através desta interação, influência indireta no metabolismo energético e na massa corporal do ser humano. Foi ainda estudada a influência deste recetor na sinalização associada ao recetor da vitamina D (VDR), tendo sido sugerido que a ausência do GPER-1 poderá bloquear os efeitos inibitórios da vitamina D em doenças autoimunes. A interação entre o VDR e o GPER-1 poderá ainda estar associada aos efeitos benéficos da vitamina D na estrutura óssea de mulheres pós-menopáusicas, uma vez que se demonstrou que estes efeitos poderão ser dependentes da ação dos estrogénios e seus derivados. Outros recetores nos quais o GPER-1 pode ter um papel importante nas suas ações incluem o recetor mineralocorticoide (com possíveis efeitos a nível da vasoconstrição e alteração da pressão sanguínea), o EGFR, bem como outros recetores associados a fatores de crescimento [10,28,30-32].

3.2 Agonistas e antagonistas seletivos do GPER-1

Conforme referido anteriormente, o 17 β -estradiol atua como um agonista no GPER-1 e nos ER clássicos. Devido a esta falta de especificidade, e dada a complexidade e vasta localização dos três tipos de ER, surgiu a necessidade da identificação de moléculas que demonstrassem ter seletividade para o GPER-1, por forma a melhor compreender os seus mecanismos de sinalização e desenvolver terapêuticas adequadas que tirassem proveito das características deste recetor [20].

Em 2006, foi identificado o composto G-1, que demonstrou ser capaz de reproduzir os efeitos do 17 β -estradiol num elevado número de sistemas fisiológicos. Para além de ser um agonista do GPER-1, o G-1 não apresenta afinidade para os recetores ER α ou ER β , não interferindo com as suas vias de sinalização, transcrição proteica ou desregulação dos mesmos. Para além disso, o composto não demonstrou atividade noutros 25 GPCR ou em modelos animais cujo GPER-1 foi removido, comprovando ser um ligando com atividade agonista altamente seletivo para este recetor [14,33].

Outros ligandos com atividade agonista e seletividade para o GPER-1 incluem o GPER-L1 e GPER-L2, não ocorrendo ligação destes aos ER clássicos. Ao contrário do G-1, nenhum destes dois compostos apresenta semelhanças estruturais à molécula de 17 β -estradiol (Figura 1) [20].

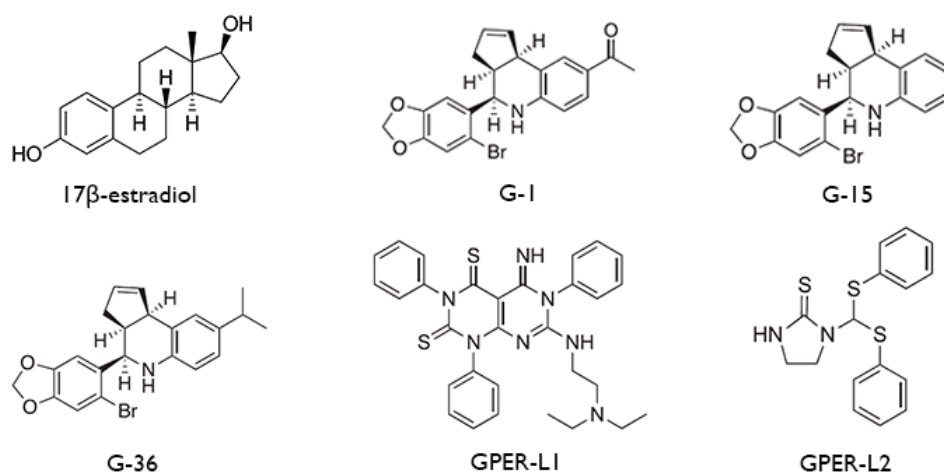


Figura 1 – Estrutura molecular do 17β-estradiol e de ligandos seletivos do GPER-1.
Adaptado de Prossnitz e Arterburn (2015) [20].

A partir da estrutura do G-I foi descoberto, em 2009, o composto G-15, com atividade antagonista para o GPER-1. Este ligando é capaz de inibir a ação do G-I e do 17β-estradiol, sendo o antagonista do GPER-1 mais comum. Posteriormente, foi desenvolvido o composto G-36, com atividade antagonista similar ao G-15, mas que apresenta uma ligação mais forte ao GPER-1, melhorando a seletividade para este recetor comparativamente ao antagonista anterior (Figura 2) [20,33]. Com base na estrutura destas três moléculas (G-I, G-15 e G-36), foram desenvolvidos compostos que, através de marcação radioativa, podem ser usados para diagnóstico e terapêutica de tumores que expressam o GPER-1 [14].

Estudos mostraram que o agonista G-I causa vasodilatação em artérias de humanos, bem como em modelos de suínos e roedores, sendo que este efeito é bloqueado pelo antagonista G-15 e está ausente em ratos cujo GPER-1 foi removido. Em estudos com ratos, tratamento com infusão do composto G-I diminui a hipertensão, auxilia na disfunção diastólica e diminui a hipertrofia cardíaca. O mecanismo desta vasodilatação deverá envolver vias de sinalização dependentes e independentes do NO, tendo sido observado em artérias de humanos e outros modelos animais [14].

3.3 Moduladores Seletivos dos Recetores de Estrogénio (SERMs)

São várias as moléculas que foram estudadas como tendo atividade potenciadora ou inibitória nos ER, sendo que muitos destes efeitos foram identificados algum tempo depois das moléculas terem sido inicialmente descobertas, podendo inclusive já ser utilizadas para efeitos clínicos diferentes [10].

Uma classe de moléculas com particular interesse são os moduladores seletivos dos recetores de estrogénio (*selective estrogen receptor modulators* – SERMs) que, na sua generalidade, apresentam elevada afinidade para os ER clássicos ou para o GPER-1. Estes são ligandos não esteroides dos ER e a sua característica diferenciadora baseia-se no facto de tanto atuarem como agonistas como antagonistas dos ER, dependendo do tecido alvo. Os seus efeitos farmacológicos nas cadeias de sinalização dos ER são complexos e ainda não estão completamente esclarecidos, embora se considere que a presença de coreguladores e o microambiente no tecido alvo determinem o tipo de efeito que o SERM tem no recetor [22,34,35].

As finalidades da administração de SERMs podem passar pelo tratamento de mulheres com cancro da mama ou pela redução dos sintomas da menopausa, como osteoporose ou afrontamentos. Apesar destes poderem ser combatidos através de uma terapêutica com recurso ao 17 β -estradiol, esta pode ter efeitos mais abrangentes e generalizados nos ER, levando a efeitos secundários indesejados. Apesar disto, são necessários estudos adicionais com a finalidade de melhor compreender o mecanismo de ação destas moléculas, de forma a desenvolver terapêuticas adequadas [35].

Diversos estudos clínicos demonstraram que os SERMs podem ter efeitos relacionados com o aumento da vasodilatação, diminuição da pressão sanguínea, melhoria do perfil lipídico e redução do número de eventos cardiovasculares em mulheres pré-menopáusicas. No entanto, uma vez que cada SERM tem propriedades e mecanismos de ação específicos, o seu estudo e avaliação são realizados individualmente [10,34].

O fármaco tamoxifeno (e o seu metabolito ativo 4-hidroxitamoxifeno) foi o primeiro SERM a ser aprovado para o tratamento do cancro da mama, reduzindo a sua recorrência. Apesar da sua ação antagonista no tecido mamário (o que o torna recomendado no tratamento do cancro da mama), na maioria dos restantes tecidos celulares, incluindo no endométrio, este atua enquanto agonista dos ER. Por outro lado, o raloxifeno, um fármaco utilizado no tratamento de osteoporose associada à menopausa, é também um SERM, atuando como fraco agonista no endométrio (Figura 2) [20,22,36].

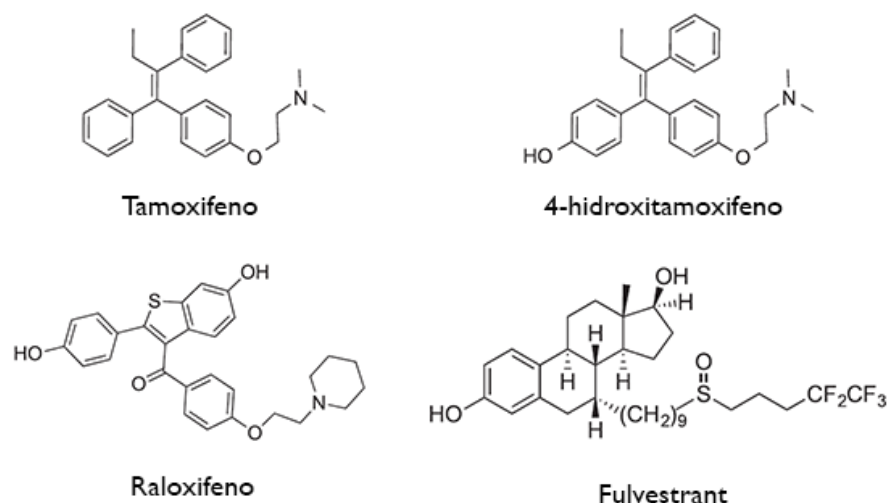


Figura 2 – Estrutura molecular dos compostos tamoxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, raloxifeno e fulvestrant. Adaptado de Prossnitz e Arterburn (2015) [20].

3.4 Degradares Seletivos dos Recetores de Estrogénio (SERDs)

Os degradares seletivos dos recetores de estrogénio (*selective estrogen receptor downregulators* – SERDs) são um grupo de moléculas que apresentam atividade antagonista e degradadora dos ER [37].

O fulvestrant (ou ICI 182,780) é um SERD utilizado clinicamente na terapêutica do cancro da mama (Figura 2). Para além de promover a dissociação da HSP90 dos monómeros de ER, este previne a posterior dimerização dos monómeros e auxilia no recrutamento de coativadores, resultando na degradação dos ER. Apesar da comprovada eficácia e dos reduzidos efeitos secundários, o fármaco apresenta uma fraca biodisponibilidade e apenas pode ser administrado por via intramuscular, uma vez por mês [20,37].

Paralelamente a ser um antagonista total e promotor da degradação dos ER, à semelhança de muitos outros SERDs estudados, o fulvestrant apresenta atividade agonista no GPER-1, o que complica a interpretação dos seus mecanismos de ação e terapêutica no que concerne às vias de sinalização relacionadas com o estrogénio [14,22].

4. GPER-1 no cancro da mama

4.1 Desenvolvimento e metástases

As células do tecido mamário são altamente sensíveis ao 17β -estradiol, sendo este responsável pela estimulação da sua proliferação durante a puberdade, o ciclo menstrual e a gravidez. O 17β -estradiol é um mediador crítico de carcinogénese na mama e em outros tipos

de tecido, estando envolvido nos processos fisiopatológicos de diversos tipos de cancros associados a respostas hormonais. Esta hormona é, como tal, responsável pela progressão e desenvolvimento de metástases, através das vias de sinalização associadas à sua ligação aos seus recetores [14].

O cancro da mama é o cancro mais comum entre mulheres a nível mundial, tendo sido registados mais de dois milhões de novos casos apenas em 2018. Os ER encontram-se expressos em 60-70% deste tipo de cancros, sendo que a ligação do 17β -estradiol a estes estimula a proliferação das células mamárias, aumentando o número de células alvo neste tecido. O aumento na divisão celular e síntese de DNA eleva o risco de erros na replicação, o que pode resultar num maior número de mutações que alterem processos celulares naturais como a apoptose, a proliferação celular e a reparação do DNA [36,38].

O GPER-1 encontra-se expresso em cerca de 50% de todos os cancros da mama, independentemente do seu tipo, sendo que a sua presença é, geralmente, um biomarcador patológico de mau resultado. Em doentes nos quais este recetor se encontrava presente, após terapêutica com tamoxifeno, a expressão do GPER-1 aumentou, diminuindo a sua sobrevivência. Níveis de expressão do GPER-1 elevados também foram relacionados com um maior tamanho do tumor e do número de metástases associadas [14,26,39].

O papel do GPER-1 na progressão do cancro da mama é bastante complexo, uma vez que, para além dos seus efeitos a nível das células epiteliais, o 17β -estradiol está também implicado, através deste recetor, na ativação de fibroblastos associados ao cancro, o que promove a proliferação das células do tumor e metástases, através da associação do GPER-1 com a cromatina [14,39].

A localização do GPER-1 na célula parece estar relacionada com o tipo de cancro mamário e o seu desenvolvimento, podendo ser um ponto chave na sua progressão. Uma localização maioritariamente citoplasmática do GPER-1 poderá estar correlacionada com fases menos avançadas dos tumores, uma melhor diferenciação histológica e uma generalizada maior taxa sobrevivência. Por outro lado, uma localização nuclear do recetor parece estar associada com uma pior diferenciação dos carcinomas, incluindo nos casos de cancro da mama triplo negativo. A sua ausência da membrana plasmática das células poderá ser indicativa de um melhor prognóstico de cancro da mama primário, sugerindo que a sinalização do GPER-1 associado à membrana plasmática da célula pode favorecer o desenvolvimento e a progressão do tumor [17,26,36].

A ativação do EGFR através da ligação dos derivados de estrogénio ao GPER-1 foi também proposta como um possível mecanismo alternativo na patogénese e progressão do cancro da mama, uma vez que a sua ativação demonstrou aumentar a expressão do GPER-1 em células tumorais e fibroblastos associados, podendo ter significância na sinalização estrogénica associada ao cancro da mama. Paralelamente, também o recetor do IGF-1 demonstrou ter capacidade de estimular a expressão do GPER-1, pelo que a atividade dos ligandos destes dois recetores pode estar envolvida nos mecanismos que estimulam a proliferação celular, angiogénese e migração do tumor, que afetam a progressão tumoral [17,36,39].

A compreensão da importância do 17β -estradiol, os seus recetores e mecanismos na evolução do cancro da mama levaram ao desenvolvimento de várias terapias com alvo nesta hormona e nas vias de sinalização associadas aos seus recetores. A mais utilizada tem por base o SERM tamoxifeno, podendo também ser utilizados SERDs, como o fulvestrant, fármacos inibidores da aromatase ou ainda outros SERMs, como o raloxifeno. Devido aos seus efeitos após a ligação aos ER clássicos e ao GPER-1, as suas ações e mecanismos terapêuticos são de elevada complexidade [14,17].

Apesar dos efeitos do tamoxifeno no tratamento do cancro da mama estarem comprovados (sendo este o primeiro SERM cuja terapêutica nesta doença foi aprovada), com uma redução da sua recorrência em cerca de 40-50%, foram descritos diversos efeitos secundários adversos associados a este fármaco, incluindo um maior risco de posterior desenvolvimento de cancro endometrial e tromboembolismos. Tendo em conta estes possíveis efeitos secundários, foram desenvolvidas novas opções terapêuticas, nomeadamente com base noutro SERM, o raloxifeno. Ensaio clínicos relativos ao tratamento com este fármaco demonstraram uma diminuição da ocorrência dos efeitos secundários adversos, comparativamente à terapêutica com tamoxifeno [39].

Nos casos de mulheres pós-menopáusicas que sofram de cancro da mama com metástases positivas para o ER α , a terapêutica de segunda linha pode passar pelo SERD fulvestrant, que previne a translocação deste recetor para o núcleo, impedindo assim a sinalização do 17β -estradiol. No entanto, o fulvestrant pode, através da ativação do GPER-1, aumentar a adesividade das células tumorais e estimular a sua proliferação e crescimento, à semelhança do que ocorre com o tamoxifeno [17,27].

Foram ainda identificados antagonistas do GPER-1 com potencial terapêutico no cancro da mama, com destaque para o composto MIBE, que apresenta atividade inibitória

tanto para o GPER-I como para os ER clássicos. Dada a influência dos três tipos de recetores no desenvolvimento e progressão do cancro da mama, e uma vez que uma grande parte destes tumores expressam, pelo menos, um destes recetores, este composto poderá representar uma estratégia terapêutica relevante, com benefícios comparativamente aos restantes antagonistas dos ER [39].

4.2 Papel controverso do GPER-I

Apesar dos inúmeros avanços e descobertas relacionadas com o papel do GPER-I no desenvolvimento do cancro da mama, foram apresentados resultados contraditórios no que concerne ao efeito deste recetor na proliferação e migração das células tumorais. Alguns estudos demonstram que a expressão do GPER-I diminui com a progressão do cancro da mama, como consequência da inativação de um promotor através de um mecanismo de metilação. Adicionalmente, níveis mais reduzidos de expressão do GPER-I poderão contribuir para a carcinogénese dos tecidos mamários e para o desenvolvimento de metástases, tendo sido indicado que o GPER-I possa funcionar como um agente de supressão tumoral [26].

Foi proposto que o GPER-I possa estar envolvido na estimulação da apoptose celular, estando a sua expressão significativamente diminuída em mulheres com cancro da mama (em casos de tumores com e sem expressão dos ER clássicos), comparativamente ao tecido mamário normal, e em mulheres com metástases associadas aos nódulos linfáticos, em comparação com casos de pacientes nos quais estas não se tinham desenvolvido [36].

As inconsistências nas observações e nos resultados obtidos poderão ser atribuídas a diversos fatores, como a utilização de amostras de diferentes subtipos de cancros mamários, as diferentes localizações do GPER-I nestas, a aplicação de distintos tipos de linhas celulares ou as condições de tratamento das células, a especificidade dos agonistas utilizados ou ainda as implicações relacionadas com concentrações hormonais e relativas ao ambiente que rodeia o tumor [36].

Para uma correta compreensão da função do GPER-I na fisiopatologia do cancro da mama, são necessárias abordagens sistemáticas, em que se recorra à distinção dos seus diferentes subtipos, por forma a que estes sejam estudados separadamente. A localização do GPER-I no interior da célula e a sua influência na progressão da doença devem também ser clarificados [26,36].

4.3 Terapêuticas de supressão da expressão do GPER-1

Um subtipo de cancro da mama particularmente proeminente é o cancro da mama triplo negativo, que se caracteriza pela ausência de expressão de ER α e do recetor da progesterona. Este subtipo representa cerca de 10-15% de todos os cancros da mama e, dada a ausência destes recetores, apenas pode ser tratado com recurso à quimioterapia, pelo que a sua mortalidade é duas vezes superior ao de tumores que expressem o recetor ER α . Uma grande porção dos tumores deste subtipo expressam em elevada quantidade o EGFR, cuja presença, à semelhança do GPER-1 (com similar elevada expressão neste subtipo cancerígeno), está associada a prognósticos negativos de sobrevivência [40].

Estudos demonstraram que a expressão destes dois recetores (GPER-1 e EGFR) em células de cancro da mama está correlacionada. O fator de crescimento epidermal (EGF), através da ligação ao seu recetor (EGFR), tem capacidade de estimular a expressão do GPER-1, potenciando assim o efeito proliferativo do 17 β -estradiol nas células tumorais. Paralelamente, o 17 β -estradiol consegue, através do GPER-1, ativar o EGFR, pelo que a estimulação do GPER-1 pelo EGF e o seu recetor criam um mecanismo de *feedback* positivo que contribui para a progressão do cancro da mama triplo negativo [24,40].

A supressão do GPER-1 pode constituir uma estratégia terapêutica alternativa contra o cancro da mama triplo negativo. Um mecanismo para obter a diminuição da expressão do GPER-1 poderá ser através do fármaco gefitinib, um inibidor da tirosina cinase do EGFR, sendo que o tratamento de células de cancro da mama triplo negativo com este composto demonstrou reduzir a expressão do GPER-1 até 85%, impedindo os consequentes efeitos das vias de sinalização iniciadas através deste recetor [24].

Paralelamente à correlação entre a expressão dos recetores EGFR e GPER-1, existe também uma associação entre o recetor da hormona do crescimento (GHR) e o recetor transmembranar de estrogénio. O GHR tem implicações a nível da progressão do cancro da mama, sendo que a utilização de pegvisomant, um inibidor seletivo deste recetor, inibiu a proliferação celular tumoral, à semelhança de outros antagonistas do GHR. Este fármaco é atualmente utilizado no tratamento da acromegalia, uma situação fisiopatológica caracterizada pela produção excessiva de hormona do crescimento (GH) [41].

Estudos demonstraram ainda que a inibição do GHR com este fármaco levou à diminuição da expressão do GPER-1 e da ativação do EGFR, suprimindo a progressão e crescimento das células tumorais de cancro da mama triplo negativo. Como tal, a diminuição

da expressão do GPER-1 através da inibição do GHR poderá constituir uma intervenção terapêutica nesta doença, suprimindo a atividade que o 17β -estradiol exerce na proliferação celular tumoral através deste recetor [24,41].

5. Conclusões

O passado está repleto de descobertas e avanços científicos importantes na área dos estrogénios e dos seus recetores. O seu papel crítico no desenvolvimento do corpo humano, particularmente na puberdade feminina, na reprodução e na menopausa transpôs-se na sua utilização terapêutica em diversas frentes, quer com influência diária, como na contraceção hormonal, quer no tratamento de situações fisiopatológicas avançadas, como é o caso de diversos tipos e subtipos de cancros.

No entanto, apesar dos avanços científicos das últimas duas décadas, as funções do GPER-1, o recetor transmembranar de estrogénio, no corpo humano ainda não se encontram completamente esclarecidos. As diferentes localizações dos três tipos de recetores de estrogénio – $ER\alpha$, $ER\beta$ e GPER-1 – e a complexidade das vias de sinalização associadas aos efeitos do estrogénio e dos seus derivados nestes contribuem para o aumento da dificuldade em entender, inequivocamente, o papel do GPER-1 na fisiologia do corpo humano e a compreender totalmente as suas potencialidades terapêuticas.

O cancro da mama tem uma prevalência que lhe confere destaque, sendo a neoplasia feminina mais detetada a nível mundial. Apesar dos avanços científicos recentes, a sua mortalidade continua a ser bastante elevada, sendo o subtipo de cancro que mais mortes provoca em mulheres. Dada a importância do estrogénio na fisiologia feminina e o facto de as células do tecido mamário serem altamente sensíveis ao 17β -estradiol, sendo este responsável pela estimulação da sua proliferação, os ER têm elevado potencial terapêutico nesta doença. Pela sua descoberta mais recente e pelo seu papel não estar ainda inteiramente esclarecido, a melhor compreensão do GPER-1 e dos mecanismos que lhe estão associados adquire um carácter essencial.

A descoberta de novas moléculas com atividade no GPER-1 trará, certamente, novos avanços a nível do tratamento de diversas doenças, particularmente nas que têm origem hormonal e, concretamente, na atividade do 17β -estradiol. O desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras que envolvam o GPER-1 poderá também passar pela sinalização celular associada a outros recetores, dada a complexidade dos mecanismos a este associados

e às diversas interações que estas têm com recetores de moléculas distintas, como é o caso das terapêuticas de supressão da expressão do GPER-1 no tratamento do cancro da mama através da inibição do EGFR e do GHR.

De uma forma global, o estudo do GPER-1 representa um avanço viável e promissor para a melhor compreensão do nosso funcionamento hormonal, bem como para o desenvolvimento de métodos de diagnóstico e terapêuticas adequadas e específicas, com o intuito de se contribuir para a diminuição da mortalidade associada a estas doenças e a melhoria da qualidade de vida dos doentes.

Referências Bibliográficas

1. SEARCHCIO – **SWOT analysis (strengths, weaknesses, opportunities and threats analysis)**. [Acedido a 25 de junho de 2019]; Disponível na internet <https://searchcio.techtarget.com/definition/SWOT-analysis-strengths-weaknesses-opportunities-andthreats-analysis>
2. KAIZEN INSTITUTE – **What is Kaizen?**. [Acedido a 25 de junho de 2019]; Disponível na internet <https://www.kaizen.com/what-is-kaizen.html>
3. CANCER RESEARCH UK – **Shiatsu**. [Acedido a 26 de junho de 2019]; Disponível na internet <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/complementary-alternative-therapies/individual-therapies/shiatsu>
4. INFARMED – **Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril – Regula a prescrição e a preparação de medicamentos manipulados**. [Acedido a 26 de junho de 2019]; Disponível na internet http://www.infarmed.pt/documents/15786/1070327/067-A-DL_95_2004.pdf
5. INFARMED – **Resumo das Características do Medicamento, Mebocaína Forte**. [Acedido a 28 de junho de 2019]; Disponível na internet http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=5359&tipo_doc=rcm
6. BLUEPHARMA – **Grupo Bluepharma**. [Acedido a 23 de julho de 2019]; Disponível na internet <https://www.bluepharma.pt/about-bluepharmagroup.php>
7. BLUEPHARMA – **História**. [Acedido a 23 de julho de 2019]; Disponível na internet <https://www.bluepharma.pt/about-history.php>
8. INFARMED – **Inspeção de fabricantes**. [Acedido a 25 de julho de 2019]; Disponível na internet <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/inspecao-de-fabricantes>
9. MEYER, M., BARTON, M. – **Estrogens and Coronary Artery Disease: New Clinical Perspectives**. In: KHALIL, R. *Advances in Pharmacology*, Volume 77. Cambridge: Academic Press, 2016. ISBN 9780128043967. p. 307–360.
10. BARTON, M. – **Not lost in translation: Emerging clinical importance of the G protein-coupled estrogen receptor GPER**. *Steroids*. 111 (2016). 37–45.
11. PROSSNITZ, E., HATHAWAY, H. – **What have we learned about GPER function in physiology and disease from knockout mice?**. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 153 (2015). 114–126.
12. MORSELLI, E., SANTOS, R., CRIOLLO, A., NELSON, M., PALMER, B., CLEGG, D. – **The effects of oestrogens and their receptors on cardiometabolic health**.

- Nature Reviews Endocrinology. 13 (2017). 352–364.
13. BOESE, A., KIM, S., YIN, K., LEE, J., HAMBLIN, M. – **Sex differences in vascular physiology and pathophysiology: estrogen and androgen signaling in health and disease.** American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology. 313 (2017). H524–H545.
 14. PROSSNITZ, E., BARTON, M. – **The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease.** Nature Reviews Endocrinology. 7 (2011). 715–726.
 15. BARTON, M., FILARDO, E., LOLAIT, S., THOMAS, P., MAGGIOLINI, M., PROSSNITZ, E. – **Twenty years of the G protein-coupled estrogen receptor GPER: Historical and personal perspectives.** Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. 176 (2018). 4–15.
 16. ZIMMERMAN, M., BUDISH, R., KASHYAP, S., LINDSEY, S. – **GPER - novel membrane estrogen receptor.** Clinical Science. 130 (2017). 1005–1016.
 17. MOLINA, L., FIGUEROA, C., BHOOLA, K., EHRENFELD, P. – **GPER-1/GPR30 a novel estrogen receptor sited in the cell membrane: therapeutic coupling to breast cancer.** Expert Opinion on Therapeutic Targets. (2017). 755–766.
 18. YAŞAR, P., AYAZ, G., USER, S., GÜPÜR, G., MUYAN, M. – **Molecular mechanism of estrogen–estrogen receptor signaling.** Reproductive Medicine and Biology. 16:1 (2017) 4–20.
 19. GUSTAFSSON, J., DAHLMAN-WRIGHT, L., JIA, M. – **Estrogen receptor alpha and beta in health and disease.** Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism. 29 (2015). 557–568.
 20. PROSSNITZ, E., ARTERBURN, J. – **International union of basic and clinical pharmacology. XCVII. G protein-coupled estrogen receptor and its pharmacologic modulators.** Pharmacological Reviews. 67 (2015). 505–540.
 21. NILSSON, S., GUSTAFSSON, J. – **Estrogen receptors: Therapies targeted to receptor subtypes.** Clinical Pharmacology and Therapeutics. 89 (2011). 44–55.
 22. MACHUKI, J., ZHANG, H., HARDING, S., SUN, H. – **Molecular pathways of oestrogen receptors and β -adrenergic receptors in cardiac cells: Recognition of their similarities, interactions and therapeutic value.** Acta Physiologica. 222 (2017). 1–19.
 23. IORGA, A., CUNNINGHAM, C., MOAZENI, S., RUFFENACH, G., UMAR, S., EGHBALI, M. – **The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy.** Biology

- of sex differences. 8 (2017). 1–16.
24. GIRGERT, R., EMONS, G., GRÜNDKER, C. – **Estrogen signaling in ER α -negative breast cancer: ER β and GPER.** *Frontiers in Endocrinology*. 9 (2019). 1–12.
 25. SÁNCHEZ, D., SIGEL, L., AZURMENDI, P., VLACHOVSKY, S., ODDO, E., ARMANDO, I., IBARRA, F., SILBERSTEIN, C. – **Estradiol stimulates cell proliferation via classic estrogen receptor-alpha and G protein-coupled estrogen receptor-1 in human renal tubular epithelial cell primary cultures.** *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 512 (2019). 170–175.
 26. FIGUEIRA, M., CARDOSO, J., SOCORRO, S. – **The role of GPER signaling in carcinogenesis: A focus on prostate cancer.** In: Fayyaz S., Farooqi A. *Recent Trends in Cancer Biology: Spotlight on Signaling Cascades and microRNAs*. Cham: Springer, 2018. ISBN 9783319715537. p. 59–117.
 27. JACENIK, D., CYGANKIEWICZ, A., KRAJEWSKA, W. – **The G protein-coupled estrogen receptor as a modulator of neoplastic transformation.** *Molecular and Cellular Endocrinology*. 429 (2016). 10–18.
 28. PROSSNITZ, E., BARTON, M. – **Estrogen biology: New insights into GPER function and clinical opportunities.** *Molecular and Cellular Endocrinology*. 389 (2014). 71–83.
 29. BARTON, M. – **Position paper: The membrane estrogen receptor GPER - Clues and questions.** *Steroids*. 77 (2012). 935–942.
 30. BARTON, M., PROSSNITZ, E. – **Emerging roles of GPER in diabetes and atherosclerosis.** *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 26 (2015). 185–192.
 31. LAPPANO, R., MARCO, P., FRANCESCO, E., CHIMENTO, A., PEZZI, V., MAGGIOLINI, M. – **Cross-talk between GPER and growth factor signaling.** *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 137 (2013). 50–56.
 32. SUBRAMANIAN, S., MILLER, L., GRAFE, M., VANDENBARK, A., OFFNER, H. – **Contribution of GPR30 for 1,25 dihydroxyvitamin D 3 protection in EAE.** *Metabolic Brain Disease*. 27 (2012). 29–35.
 33. HADJIMARKOU, M., VASUDEVAN, N. – **GPER1/GPR30 in the brain: Crosstalk with classical estrogen receptors and implications for behavior.** *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 176 (2018). 57–64.
 34. JÚNIOR, J., KULAK, C., TAYLOR, H. – **SERMs in the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: an update.** *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 54 (2010). 200–205.

35. ARAO, Y., KORACH, K. – **Transactivation Function-I-Mediated Partial Agonist Activity of Selective Estrogen Receptor Modulator Requires Homo-Dimerization of the Estrogen Receptor α Ligand Binding Domain.** International Journal of Molecular Sciences. 20 (2019). 1–12.
36. HSU, L., CHU, N., LIN, Y., KAO, S. - **G-protein coupled estrogen receptor in breast cancer.** International Journal of Molecular Sciences. 20 (2019). 1–16.
37. GUO, S., ZHANG, C., BRATTON, M., MOTTAMAL, M., LIU, J., MA, P., ZHENG, S., ZHONG, Q., YANG, L., WIESE, T., WU, Y., ELLIS, M., MATOSSIAN, M., BURROW, M., MIELE, I., HOUTMAN, R., WANG, G. – **ZB716, a steroidal selective estrogen receptor degrader (SERD), is orally efficacious in blocking tumor growth in mouse xenograft models.** Oncotarget. 9 (2018). 6924–6937.
38. VIEDMA-RODRÍGUEZ, R., BAIZA-GUTMAN, L., SALAMANCA-GÓMEZ, F., DIAZ-ZARAGOZA, M; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G., ESPARZA-GARRIDO, R., VELÁZQUEZ-FLORES, M., ARENAS-ARANDA, D. – **Mechanisms associated with resistance to tamoxifen in estrogen receptor-positive breast cancer (review).** Oncology Reports. 32 (2014). 3–15.
39. LAPPANO, R., PISANO, A., MAGGIOLINI, M. – **GPER function in breast cancer: An overview.** Frontiers in Endocrinology. 5 (2014). 1–6.
40. GIRGERT, R., EMONS, G., GRÜNDKER, C. – **17 β -estradiol-induced growth of triple-negative breast cancer cells is prevented by the reduction of GPER expression after treatment with gefitinib.** Oncology Reports. 37 (2017). 1212–1218.
41. GIRGERT, R., EMONS, G., GRÜNDKER, C. – **Inhibition of growth hormone receptor by somavert reduces expression of GPER and prevents growth stimulation of triple-negative breast cancer by 17 β -estradiol.** Oncology Letters. 15 (2018). 9559–9566.